

2. 11 样品的测定 取供试品, 按供试品制备及色谱条件项下, 进行提取, 制备, 进样测定, 以外标一点法计算含量, 结果见表 2。

三、讨论

1. 对大黄与薄荷脑、麻黄与甘草合并进行鉴别, 不但简便了薄层鉴别方法, 缩短了试验时间, 提高了工作效率, 还降低了成本。

2. 经对连翘苷进行紫外区光谱扫描, 发现在 205nm、228nm、277nm 处均有吸收, 选用吸收度最强的 205nm 处为测定波长, 不但提高了检测灵敏度, 能够取得很好的色谱效果, 且较通常选用的 277nm 为检测波长, 其取样量大大降低至五十分之

一, 减少了杂质的进样量, 延长了色谱柱的使用寿命, 极大的降低了检测成本。

3. 经过对超声时间、氧化铝用量以及洗脱液的量进行考察发现, 超声 20 分钟即可将连翘苷提取完全; 氧化铝用量 1g 和 2g 结果相似, 但 1g 杂质峰较多, 3g 和 4g 氧化铝对连翘苷含量有一定影响, 故选用 2g 氧化铝; 用 50% 甲醇洗脱至 10ml 容量瓶中, 再用 50% 甲醇洗脱至 5ml 容量瓶中, 分别吸取 20μl, 注入色谱仪, 进行吸收峰检测, 结果 5ml 的样品中未检测到连翘苷的吸收峰, 证明 10ml50% 甲醇已经洗脱充分。

RP-HPLC 法测定骨健口服液中阿魏酸的含量

董晓烨 尹 华 周爱珍(浙江中医学院, 杭州 310053)

摘要 目的: 建立骨健口服液中阿魏酸的 RP-HPLC 含量测定方法。方法: 采用反相高效液相色谱法, 色谱柱: ZORBAX Eclipse XDB C₁₈(150×4.6mm, 5μm), 流动相: 乙腈:0.085% (v/v) 磷酸水溶液= 15 : 85, 检测波长: 314nm, 流速: 1.0mL · min⁻¹。结果: 阿魏酸在 1.0 ~12.0μg · mL⁻¹ 范围内呈良好的线性关系 (r= 0.9998), 三个浓度的平均加样回收率分别为 99.1%、100.2%、101.2%, RSD 分别为 2.2%、1.7%、2.1%。结论: 该方法简便、准确, 可用于控制骨健口服液制剂的质量。

关键词 骨健口服液; 阿魏酸; 高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: 921.2 文献标识码: A 文章编号: 1009-3656(2007)-1-59-4

Determination of Ferulic acid in Gujian Oral Solution by RP-HPLC

Dong Xiao-ye, Yin Hua, Zhou Ai-zhen(*Zhejiang College of TCM, Hangzhou 310053*)

Abstract Objective: To establish a method for determination of Ferulic acid in Gujian Oral Solution. **Method:** The samples were determined by RP-HPLC on a ZORBAX Eclipse XDB C₁₈ column (150 × 4.6mm, 5μm). The mobile phase consisted of acetonitril and 0.085% (v/v) phostrate acid (15 : 85); the detection wavelength was at 314 nm and the flow rate was 1.0 mL · min⁻¹. **Results:** The calibration curves of Ferulic acid was linear in the range of 1.0 ~ 12.0 μg · mL⁻¹ (r= 0.9998). The average recovery were 99.1%, 100.2%, 101.2% of three different concentrations, and RSD were 2.2%, 1.7%, 2.1%, respectively. **Conclusion:** The method is simple and accurate, which can be used for the quality control of Gujian Oral Solution. **Key words** Gujian Oral Solution; Ferulic acid; HPLC; quantitative determination

骨健口服液是由黄芪、当归、丹参、杜仲、菟丝子、延胡索等组成的纯中药制剂, 具有益气补肾、养血活血、通络壮骨之功效。该制剂由浙江省中医骨伤研究所研究开发, 为浙江省中医院的医院制剂, 临床治疗股骨头坏死疗效显著。当归为方中臣药, 具有活血养血、通络止痛之功效。现代研究表明, 当归具有扩张血管、改善微循环、抗血凝消血栓、降低血液粘度及抗菌抗炎、提高机体免疫功能等作用, 其主要有效成分为阿魏酸。该制剂目前尚无含量测定指标, 为

保证各批次产品间质量的稳定可控, 实现临床用药的疗效稳定、安全可靠, 我们建立了骨健口服液中阿魏酸的 RP-HPLC 含量测定方法, 该方法操作简便、结果可靠、重现性好, 可用于骨健口服液制剂的质量控制。

一、仪器与试药

1. 仪器

Agilent 1100 Series 高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司), 紫外检测器, 三锐色谱工作站

PHS-3TC 数显酸度计(上海天达仪器有限公司), KQ-5200B 型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司), 十万分之一电子分析天平(德国, 塞多利斯)

2. 试药

阿魏酸对照品(购自中国药品生物制品检定所, 批号: 0773-9910), 乙腈(色谱纯, Merck KgaA)、磷酸(优级纯, 国药集团化学试剂有限公司), 其余试剂均为分析纯, 水为双蒸水(过 $0.2\mu\text{m}$ 滤膜), 骨健口服液制剂(浙江省中医院制剂室提供, 批号: 20050203, 20050306, 20050418)。

二、方法与结果

1. 色谱条件及系统适应性

色谱柱: ZORBAX Eclipse XDB C₁₈ ($150 \times 4.6\text{mm}$, $5\mu\text{m}$), 流动相: 乙腈: 0.085% (v/v) 磷酸 = 15 : 85, 检测波长: 314nm, 流速: $1.0\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 进样量为 $20\mu\text{L}$ 。

2. 溶液制备

2.1 对照品溶液的制备

精密称取阿魏酸对照品 5.03mg, 置 25mL 棕色量瓶中, 加 70% 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀得 $0.20\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的储备液。精密量取 0.75mL 对照品储备液至 25mL 棕色量瓶中, 加 70% 甲醇稀释至

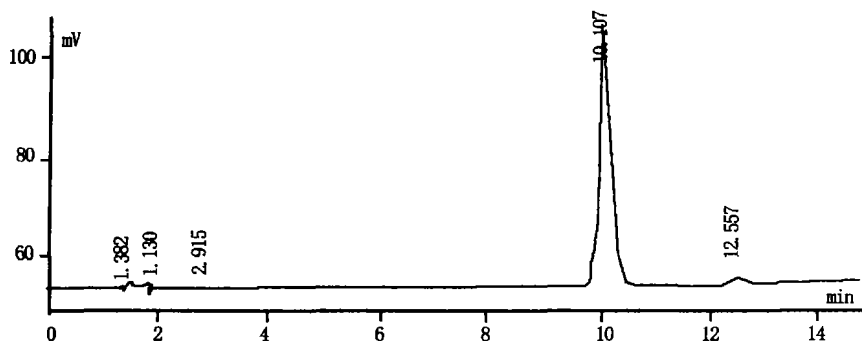


图 1 A 阿魏酸对照品溶液色谱图

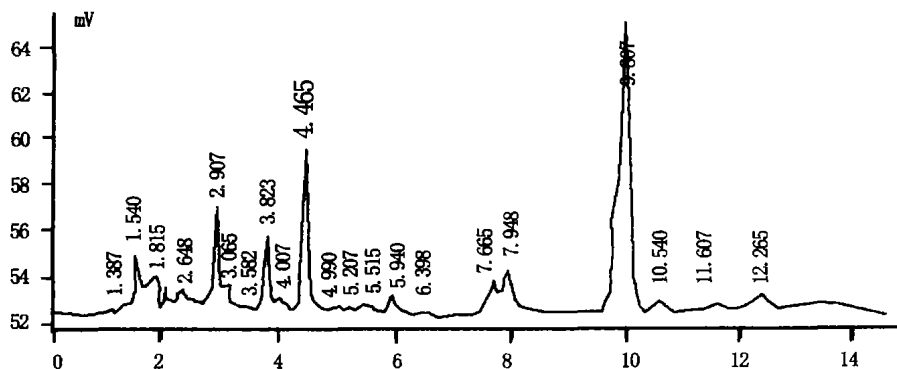


图 1 B 骨健口服液供试品溶液色谱图

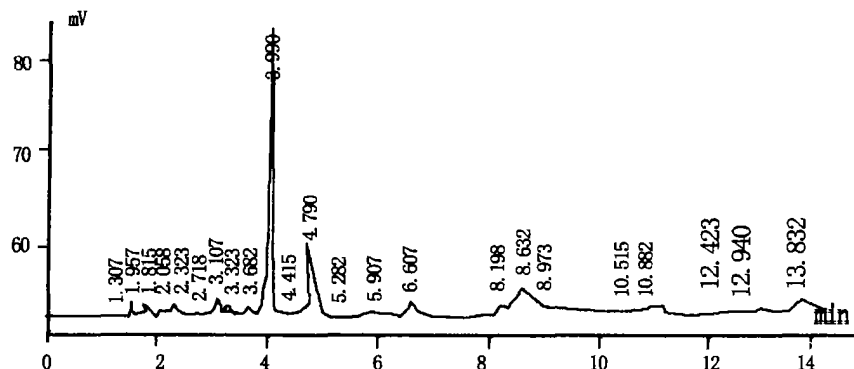


图 1 C 对照品溶液色谱图

刻度, 摇匀得 $6.0\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的阿魏酸对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备

精密量取骨健口服液 4.20mL, 稀盐酸调 pH1~2, 用乙醚萃取 4 次(20、20、15、15mL), 合并乙醚液, 蒸干乙醚, 残渣加甲醇溶解并定容至 10mL, 摇匀, 用 $0.45\mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.3 缺当归阴性对照溶液的制备

按处方比例称取除当归的其他药味, 依照骨健口服液的生产工艺制成缺当归的骨健口服液阴性制剂, 再按供试品溶液的制备方法制成缺当归的阴性对照溶液。

3. 空白试验

分别吸取阿魏酸对照品溶液、骨健口服液供试品溶液及缺当归的阴性对照溶液各 20 μL 注入 HPLC 仪, 在上述色谱条件下测定, 得到相应的色谱图(图1A、1B、1C)。结果表明: 骨健口服液供试品溶液的色谱图在与阿魏酸对照品相应保留时间处出现阿魏酸的色谱峰; 而缺当归的阴性对照溶液色谱图在相同保留时间处没有出现上述色谱峰, 说明制剂中其他成分对阿魏酸的测定不产生干扰。

4. 线性关系考察

分别精密吸取 $0.20\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 阿魏酸对照品溶液 50、100、200、250、400、500、600 μL , 置 10mL 棕色量瓶中, 加 75% 甲醇定容至刻度, 摇匀, 得 1.0、2.0、4.0、5.0、8.0、10.0、12.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 7 个浓度系列的阿魏酸对照品溶液。在上述色谱条件下, 分别进样 20 μL 测定。以阿魏酸的进样量 X(μg) 分别对相应峰面积积分值 Y 进行线性回归, 得回归方程: $Y = 7503.2662X + 0.0000$ ($r = 0.9998$)。

5. 精密度试验

分别精密吸取 $2.0\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 阿魏酸对照品溶液各 20 μL 重复进样 6 次, 结果阿魏酸峰面积的 RSD 为 0.33%, 表明精密度良好。

6. 稳定性试验

取同一供试品溶液(批号 20050306), 分别于 0、1、2、4、8、16、24、48h 进样测定, 结果阿魏酸峰面积的 RSD 为 2.1%, 表明骨健口服液供试品溶液在 48h 内稳定性良好。

7. 重复性试验

精密吸取同一批骨健口服液(批号 20050306) 5 份, 每份 4.20mL, 按“2.2.2 供试品溶液的制备”项下方法制备供试液, 并在上述色谱条件下进行测定。结果样品中阿魏酸的平均含量为 $0.03299\text{mg} \cdot$

mL^{-1} , RSD 为 1.7%。

8. 加样回收率试验

精密量取 2.10mL 已知阿魏酸含量的骨健口服液(批号为 20050306) 9 份, 分别精密加入 $0.2\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 阿魏酸对照品溶液相当于骨健口服液中阿魏酸含量的 80%、100%、120%, 每个浓度平行做 3 份, 按“2.2.2 供试品溶液的制备”项下方法制备供试液并定容至 10mL, 进行回收率测定, 计算加样回收率, 结果见表 1。

表1 阿魏酸的加样回收率实验结果

取样量 (μg)	加入量 (μg)	测定量 (μg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
69.29	56.00	126.34	101.9		
69.29	56.00	124.02	97.7	99.1	2.2
69.29	56.00	123.50	96.8		
69.29	70.00	139.07	99.7		
69.29	70.00	138.08	98.3	100.2	1.7
69.29	70.00	141.02	102.5		
69.29	84.00	151.96	98.4		
69.29	84.00	154.73	101.7	101.2	2.1
69.29	84.00	156.19	103.4		

9. 样品含量测定

精密量取 3 批不同批号骨健口服液制剂, 每批平行测定 3 份, 按“2.2.2 供试品溶液的制备”项下方法制备供试液, 并在上述色谱条件下测定, 计算样品中阿魏酸的含量, 结果见表 2。

表2 样品含量测定结果(n= 3)

批号	含量($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	RSD(%)
20050203	0.03654	1.81
20050306	0.03296	1.39
20050418	0.03192	1.76

三、讨论

1. 阿魏酸的稳定性 阿魏酸为骨健口服液中的主要有效成分之一, 但其常不稳定, 见光、受热后极易发生异构化而降解, 阿魏酸对照品在放置 4 小时后含量即降低, 故在实验过程中需采取避光防热措施^[2]。但制剂中由于各成分的相互影响, 使阿魏酸含量相对稳定, 在 48 小时内变化不大。

2. 色谱柱的确定 本实验分别试验了 Zorbax Eclipse XDB-C₁₈(4.6mm × 250mm, 5 μm), Zorbax Eclipse XDB-C₁₈(4.6mm × 150mm, 5 μm) 和 Zorbax Eclipse XDB-C₈(4.6mm × 150mm, 5 μm) 等色谱柱。综合考虑分离度与分析时间, 最终选定 Zorbax

Eclipse XDB-C₁₈(4.6mm × 150mm, 5μm) 色谱柱。

3. 流动相的优化 阿魏酸为酸性物质,在中性流动相中易发生离解,使含量偏低且拖尾严重,故我们采用了反相离子抑制技术,在流动相中加入少量磷酸,抑制其离解。本实验考察了不同的流动相,乙腈 0.085% 磷酸(17 83)、乙腈 0.085% 磷酸(15 85)、乙腈 0.085% 磷酸(13 87)、乙腈 0.085% 磷酸(14 86)等,发现采用乙腈 0.085% 磷酸(15 85)为流动相时,阿魏酸的出峰时间在 9min 左右,且峰形好,分离度高,故本实验采用此体系为流动相。

4. 检测波长的确定 取阿魏酸对照品溶液适量,经紫外光谱扫描,其最大吸收波长为 314nm,因而选择检测波长为 314nm。

5. 萃取溶剂的确定 分别采用乙醚、氯仿、乙酸乙酯 3 种溶剂萃取骨健口服液,结果乙醚萃取率

最高,萃取 4 次后阿魏酸已基本提尽。故本文采用乙醚为溶剂萃取骨健口服液中的阿魏酸^[2~4]。

6. pH 值对阿魏酸含量的影响 本实验考察了未调 pH 值和用 0.1mol · L⁻¹ 盐酸调 pH 至一定值的条件下,用乙醚萃取,进行测定。结果表明调节 pH 至 1~2 的供试品溶液中阿魏酸含量明显较高;且当流动相的 pH 值为 2.2 时,峰形较好,系统适用性符合要求。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 化学工业出版社. 2005: 89
[2] 孙忠, 彭康. HPLC 法测定补阳还五汤中阿魏酸的含量研究[J], 中医药学刊, 2004, 22(5): 833 ~ 834
[3] 李玲, 王丽. HPLC 测定升血灵口服液中阿魏酸的含量[J], 中成药, 2004, 26(12): 1077 ~ 1078
[4] 刘高峰, 王伟, 刘艳, 等. 高效液相色谱法测定乌梅透骨口服液中阿魏酸的含量[J], 中国药房, 2003, 14(9): 554 ~ 555

HPLC 法测定胍西替柳干混悬剂的溶出度

武 洋 王全一 矫筱蔓(辽宁省药品检验所 沈阳 110023)

摘要 目的: 建立胍西替柳干混悬剂的溶出度测定方法。方法: 采用溶出度测定法第二法(桨法), 选用 0.5% 十二烷基硫酸钠溶液 1000ml 为溶剂, 转速 100r · min⁻¹, 取样时间为 45 分钟, 采用 HPLC 法测定, C₁₈ 柱, 以甲醇-水(70:30)为流动相, 流速 1.0ml · min⁻¹, 检测波长为 276nm。结果: 胍西替柳的线性范围: 0.108 ~ 0.973μg(r = 0.99996); 平均回收率为: 胍西替柳 88.1% (n = 9)。结论: 本方法简便、准确可信, 可为评价胍西替柳干混悬剂的溶出度提供依据。

关键词: 胍西替柳干混悬剂; HPLC 法; 溶出度

中图分类号: 921.2 文献标识码: A 文章编号: 1009-3656(2007)-4-62-3

胍西替柳为消炎镇痛药, 其制剂有胶囊剂、片剂及新研制的干混悬剂。因胍西替柳为水不溶性药物, 因此, 需做溶出度检查。本法操作简便, 专属性强, 结果准确且辅料无干扰。

一、仪器与试药

1. 仪器

ZRS-8 型溶出仪(天津大学精密仪器厂)、Agilent 1100 系列 HPLC 仪、TU-1901 分光光度计(北京通用)

2. 试药

胍西替柳干混悬剂及胍西替柳对照品(由大连天宇制药有限公司提供)。

二、色谱条件

色谱柱: 迪马公司 C₁₈(150mm × 4.6mm, 5μm), 流动相: 甲醇-水(70 30), 流速 1.0ml · min⁻¹, 检测

波长 276nm, 柱稳: 室温, 进样量: 10μl。理论板数: 按胍西替柳计算应不低于 2800。

三、方法与结果

1. 溶液的配制

溶剂的选择 胍西替柳在酸、水中溶解度差, 故选用 0.5% 十二烷基硫酸钠溶液作为溶剂。

2. 对照品溶液的配制 精密称量胍西替柳对照品约 20mg, 置 25ml 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精取 1ml, 置 10ml 量瓶中, 加流动相稀释至刻度。

3. 供试品溶液的配制 取本品一袋, 采用溶出度法, 0.5% 十二烷基磺酸钠溶液 1000ml 为溶剂, 100 转/分, 经 45 分钟后, 取溶液适量, 滤过, 精取续滤液 2ml, 置 10ml 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀。